

А.П. Каплун
профессор,
А.Е. Степанов
ведущий научный сотрудник,
В.И. Швец
академик РАМН
кафедра Биотехнологии
МИТХТ им. М.В. Ломоносова

НАНОЧАСТИЦЫ КАК СРЕДСТВО ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

УДК547.9:612.397:678.012

В статье рассматриваются общие свойства наночастиц как средств доставки лекарственных веществ и некоторые нанопрепараты, разрабатываемые на кафедре Биотехнологии. Было показано, в частности, что липосомные формы ДОФА и дофамина в дозах на порядок меньших, чем соответствующие растворы, дают более выраженный эффект на паркинсонических мышах, и проникают в мозг в 100 раз лучше; липосомный баларпан ускоряет эпителизацию повреждений роговицы в два раза и увеличивают прочность рубца в пять раз по сравнению с раствором.

Сокращения: БК – бетулиновая кислота, в.б. – внутрибрюшинно, ГЭБ – гемато-энцефалический барьер, L-ДОФА – L-диоксифенилаланин, ЛПНП – липопротеины низкой плотности, Лс – липосомы, ПЭГ – полиэтиленгликоль, ТЛЧ – твердые липидные частицы, Хол – холестерин, яФХ – яичный

фосфатидилхолин, МРТР – метил-фенил-тетрагидропиридин.

Эффективность медицинских препаратов зависит не только от активности и селективности лекарственной субстанции, но и от лекарственной формы. Как правило, различные лекарственные формы отличаются одна от другой фармакокинетикой. В этом отношении наночастицы уникальны. Преимущества наночастиц перед обычными лекарственными формами часто оцениваются порядками.

Свойства наночастиц

Известны несколько типов наночастиц, которые исследуются как системы доставки лекарств: липосомы, наноэмульсии, твердые липидные частицы (ТЛЧ), полимерные наносферы, полимерные мицеллы, кохлеаты, наносuspensions и др. Каждый из них имеет преимущества и недостатки (табл. 1).

Таблица 1. Физические и биологические свойства некоторых коллоидных систем доставки лекарств (модифицировано из [1])

	Липосомы	Наносuspensions	ТЛЧ	Эмульсии	Полимерные наносферы
Стабильность субстанции	+	++	+	+	+
Стабильность при хранении	+	++	+	+	+
Эффективность загрузки	Низкая	Высокая	Низкая	Высокая	Высокая
Стабильность в организме	+	++	+	+	++
Возможность перорального введения	-	++	++	+	++
Возможность нацеливания	++	++	++	+	+
Безопасность	++	++	++	++	++
Размер частиц, нм	40-1000	50-900	40-900	300-1500	40-100
Легкость масштабирования	+	++	+	++	+
Стерилизация паром	-	++	+	++	+
Стоимость производства	Высокая	Низкая	Низкая	Низкая	Низкая

Уже десятки медицинских препаратов, в которых используются Липосомы [2] и наноземульсии [3] доступны на фармацевтическом рынке: доксорубин, дауномицин, амфотерицин В, морфин, цитарабин, диазепам, пропифол, циклоспорин А, ритонавир, этомидат. Недавно в США были одобрены для медицинского использования несколько препаратов на основе полимеров: Oncaspar [4], Abraxane [5], Xyotax [6], Rapamune [7].

Главные преимущества наночастиц как систем доставки: эффект пассивного нацеливания, уменьшение токсичности лекарственной субстанции, увеличение биодоступности для плохо растворимых веществ, постепенное высвобождение,

защита лекарственного вещества от преждевременной деструкции.

Важным событием в развитии нанопрепаратов было открытие, что присоединение гибких полярных полимерных цепочек (чаще всего ПЭГ) увеличивает время циркуляции. Такие стерически стабилизированные наночастицы позволяют в наибольшей степени проявиться эффектам пассивного и активного нацеливания [8].

Исследования кафедры «Биотехнология»

На нашей кафедре находятся два десятка липосомных препаратов на различных стадиях исследования (Табл. 2)

Таблица 2. Липосомные препараты, разрабатываемые на кафедре «Биотехнология»

Субстанция	Тип препарата	Стадия разработки
Доксорубин*	Противоопухолевый	Производится на Украине
Цисплатин*	Противоопухолевый	Биологические испытания
Фторурацил*	Противоопухолевый	Биологические испытания
Фосфатидилхолин*	Антигипоксический.	Производится на Украине
Антраль*	Гепатопротектант	Производится на Украине
Сульфатид*	Для лечения гемолитической болезни новорожденных	Закончены биологические испытания
Рифампицин, рифамбутин, изониазид	Противотуберкулезный	Биологические испытания t
L-ДОФА, дофамин* ³	Для лечения болезни Паркинсона	Закончены биологические испытания
Баларпан* ²	Препарат для улучшения заживления поврежденной роговицы	Начаты клинические испытания
Бетулиновая кислота	Противоопухолевый (антимеланомный)	Биологические испытания
Доксорубин + ангистатин* ⁴	Противоопухолевый	Лабораторные исследования

* В сотрудничестве с «Биолек», Харьков, Украина

*² В сотрудничестве с МНТК «Микрохирургия глаза» им. Федорова *³ В сотрудничестве с Институтом Общей Патологии и Патофизиологии РАМН *⁴ В сотрудничестве с Институтом Экологической Медицины

Среди них: препараты для лечения болезни Паркинсона [9,10], препарат для улучшения заживления поврежденной роговицы [11], препараты бетулиновой кислоты и ее производных как антимеланомного средства [12, 13].

Липосомные препараты для лечения болезни Паркинсона

Известно, что причиной болезни Паркинсона является понижение уровня дофамина в стриатуме вследствие

повреждения дофаминэргических нейронов черном теле. Восстановление уровня дофамина стало главной целью терапии болезни Паркинсона [14]. Однако, системное введение дофамина не оказывает никакого влияния на его концентрацию в мозге из-за неспособности проникать через ГЭБ. Поэтому основой лечения болезни Паркинсона остается использование биохимического предшественника дофамина –L-ДОФА [14].

Несколько лет тому назад мы продемонстрировали (Рис. 1), что длительное введение L-ДОФА, инкапсулированного в липосомы, в дозе в 10 раз меньшей

традиционной дозы, приводит к более эффективной компенсации нарушений в поведении паркинсонических мышей, чем в случае раствора L-ДОФА [15].

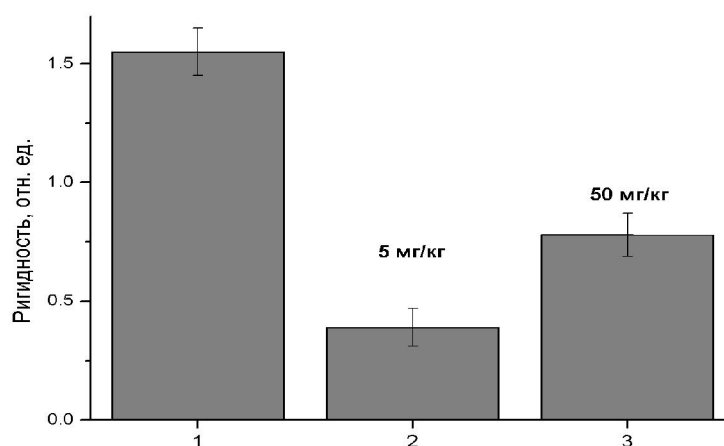


Рис. 1. Уменьшение ригидности у мышей с МРТР-индуцированным синдроме Паркинсона после введения препаратов L-ДОФА: 1. физраствор (контроль); 2 липосомный L-ДОФА; раствор L-ДОФА.

Принимая во внимание тот факт, что способность проникать для многих веществ может быть значительно улучшена введением в липосомной форме [16,17], мы предположили, что инкапсулированный в липосомы дофамин сможет проявлять антипаркинсоническую активность. Мы проверили данное предположение и обнаружили, что, на самом деле, дофамин, загруженный в липосомы, но не раствор дофамина частично восстанавливает биохимические и поведенческие отклонения у мышей с экспериментальным синдромом Паркинсона [18].

Очевидно, что эффект таких липосомных препаратов прямо зависит от содержания дофамина в липосомах. Но обычные методы получения не дают достаточной загрузки в липосомы из-за их малого размера и вытекания субстанции [19]. С другой стороны, было показано, что слабые основания, том числе и некоторые биогенные амины могут быть загружены против градиента концентрации протонов, или сульфата аммония [20,21].

Было исследование влияние состава липосом, концентрации, отношения лекарство/липиды (Табл. 3), гидрофобных и полярных антиоксидантов.

Таблица 3. Характеристики липосом, загруженных дофамином с помощью градиента сульфата аммония.

Начальная концентрация, мг/мл		Отношение дофамин/липиды, ммоль/моль		Доля дофамина в Лс от начального через 24 ч (14 дней), %
Липиды	Дофамин	Начальная	В Лс	
50*	2.5	214	20	10 (8)
20	0.5	107	53	49 (49)
20	1	214	79	37 (39)
50	0.5	42	28	66 (67)
50**	1	85	44	52 (56)
100	0.5	21	19	87 (89)
100	1	42	33	79 (81)

* Липосомы, приготовленные обычной методикой (озвучивание мультимембранных липосом), проверенные на их антипаркинсоническую активность.

** Липосомы с увеличенным отношением дофамин/липиды, проверенные на их антипаркинсоническую активность.

Наилучшие результаты были получены для состава яФХ/Хол (7:3, моль/моль), загруженные при 4°C, концентрации липидов 50 мг/мл, концентрации дофамина 1 мг/мл, гидрофобный антиоксидант альфа-токоферол, полярный – бисульфит натрия.

Моноламеллярные липосомы размером 60-100 нм, загруженные дофамином, мы использовали в исследованиях на мышах с МРТР-индуцированным синдромом Паркинсона.

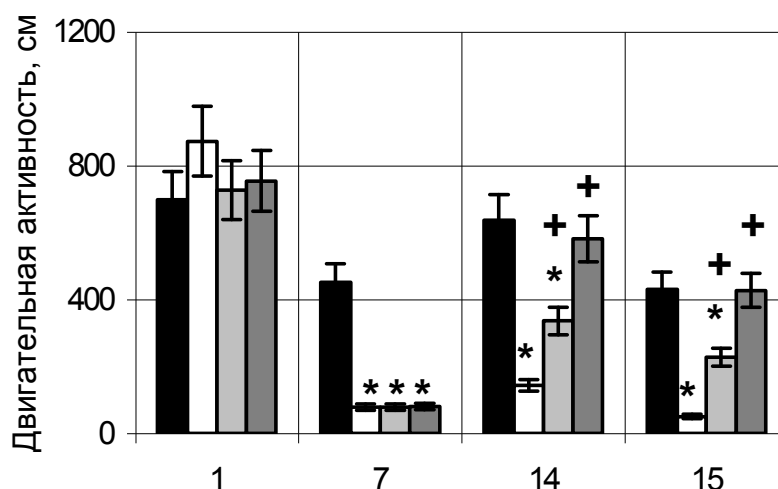


Рис. 2. Эффект внутрибрюшинного введения липосом с увеличенным отношением дофамин/липиды (дофамин 2.5 мг/кг, липиды 250 мг/кг, каждые 12 ч в течении 7 дней) на моторную активность у МРТР-обработанных мышей. Абсцисса периодичность тестирования (1 – перед введением МРТР, 7 – на 7 день введения МРТР (день начала введения липосом), 14 – через 7 дней введения липосом, 15 – 24 ч после последнего введения липосом). Данные приведены как среднее значение и SEM. Статистический анализ проводили с помощью теста ANOVA и t-теста Ньюмана. Статистически достоверные различия обозначены: *, по сравнению с животными, получавшими физраствор ($p < 0.05$); +, по сравнению с МРТР-обработанными животными ($p < 0.05$). Группы животных (по 12 в каждой):

- - мыши, получившие внутрибрюшинно физраствор;
- - мыши, получившие внутрибрюшинно МРТР и физраствор;
- ▒ - мыши, получившие внутрибрюшинно МРТР и липосомы с физраствором;
- - мыши, получившие внутрибрюшинно МРТР и липосомы с дофамином.

Введение раствора дофамина (в.б., 50 мг/кг) никак не повлияла на моторную активность МРТР-обработанных мышей. Введение липосом с увеличенным содержанием дофамина (дофамин 2.5 мг/кг, липиды 250 мг/кг, каждые 12 ч в течении 7 дней) значительно увеличивало двигательную активность на 7 день инъекций липосом; и антипаркинсонический эффект наблюдался в течении 24 ч после последней инъекции (рис.2)

Было также показано, что, как и ожидалось, длительное введение раствора дофамина не приводило к какому-либо эффекту на уровень его и его метаболитов в стриатуме.

Введение приготовленных обычным образом дофамин содержащих липосом (дофамин 3.5 мг/кг, липидов 500 мг/кг, каждые 12 ч в течение 14 дней) увеличивало

уровень дофамина в стриатуме на 40%. Концентрация в стриатуме ДОФУК (признак внутриклеточного метаболизма дофамина) и ГВК (критерия постсинаптической биотрансформации дофамина) через 14 дневного введения увеличивались в 2.6 и 1.7 раза соответственно. Введение же липосом с увеличенным отношением дофамин/липиды (дофамин 2.5 мг/кг, липиды 250 мг/кг, каждые 12 ч 7 дней) приводило к полной компенсации дефицита дофамина в стриатуме (рис. 3А). Концентрация в стриатуме ДОФУК и ГВК после семидневного введения увеличивается в 18 и 8.5 раз (рис. 3В). Приведенные данные подтверждают, что двукратное увеличение отношения дофамин/липиды приводит к более чем четырехкратному увеличению уровня дофамина в стриатуме (рис. 3А)

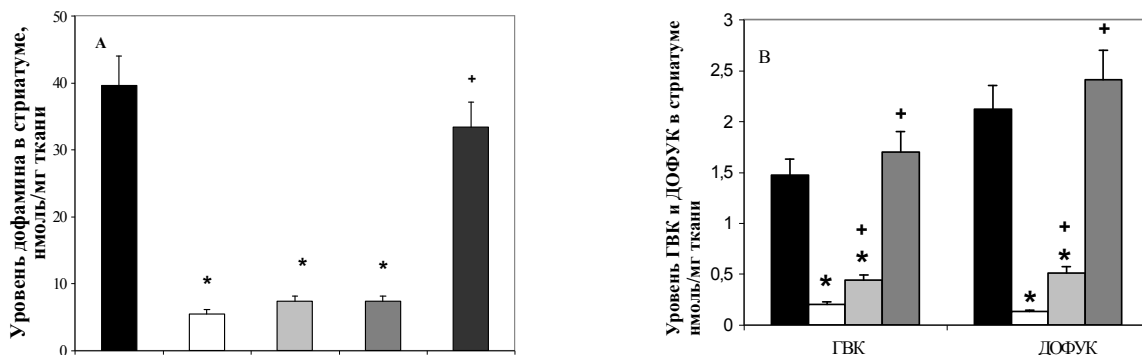


Рис. 3. Уровень дофамина (А) и его метаболитов: ГВК и ДОФУК (В) в стриатуме МРТР-мышей. Дофамин, ГВК и ДОФУК определяли с помощью ВЭЖХ/ЭД после 7 дней введения липосом с увеличенным отношением дофамин/липиды. Статистический анализ проводили с помощью теста ANOVA и t-теста Ньюмана. Статистически достоверные различия обозначены: *, по сравнению с животными, получавшими физраствор ($p < 0.05$); +, по сравнению с МРТР-обработанными животными ($p < 0.05$). Группы животных (по 12 в каждой):

■ - мыши, получившие внутрибрюшинно физраствор;

□ - мыши, получившие внутрибрюшинно МРТР и физраствор;

▒ - мыши, получившие внутрибрюшинно МРТР и липосомы с физраствором;

■ - мыши, получившие внутрибрюшинно МРТР и стандартно приготовленные липосомы с дофамином.

■ - мыши, получившие внутрибрюшинно МРТР и липосомы с дофамином с увеличенным отношением дофамин/липиды

В то же самое время липосомы, содержащие только физраствор, демонстрировали некоторый положительный эффект, включая повышение двигательной активности (рис. 2), и вероятно, модуляцию высвобождения дофамина из выживших нейронов (рис. 3). Это явление было подробно описано нами ранее [22].

Таким образом, описанные результаты показывают, что увеличение отношения дофамин/липиды позволяет значительно уменьшить дозу, как липидов, так и дофамина, необходимой для подавления симптомов болезни Паркинсона. Увеличение отношения дофамин/липиды в липосомах позволяет сократить период введения липосом с 14 до 7 дней и пролонгировать терапевтический эффект до 24 ч.

Полученные данные можно рассматривать как биохимическое доказательство преимущества липосом как системы для доставки дофамина в мозг. Наши результаты показывают, что существует специфические механизмы, которые облегчают проницаемость в мозг для субстанций, инкапсулированных в липосомы. Наиболее вероятный механизм облегченного проникновения наночастиц через ГЭБ – рецептор- опосредованный

транцитоз [23]. Остается неясным, какие рецепторы могут узнавать наночастицы. Сопоставляя два известных факта: любые наночастицы улучшают прохождение загруженного в них вещества и все типы наночастиц подвергаются в крови опсонизации, можно предположить, что именно какие-то опсонины имеют рецепторы на эндотелии капилляров мозга. Не исключено, что ЛПНП или их белки могут сорбироваться на наночастицах, что, и приводит к транцитозу наночастиц через эндотелий, так как рецепторы для ЛПНП присутствуют на эпителиальных клетках [24].

Липосомный препарат для лечения повреждений роговицы

Важная проблема, возникающая после операций на глазах, быстрая и эффективная эпителизация роговицы. Мы обнаружили, что нанесение липосомной формы баларпана приводит к лучшим результатам по сравнению с использованием его раствора. Так, после кератотомии в глаза кроликов закапывал раствор баларпана или липосомный баларпан. В последнем случае предел прочности на разрыв более чем в 5 раз превышал таковой после обработки глаз раствором баларпана (рис. 4).

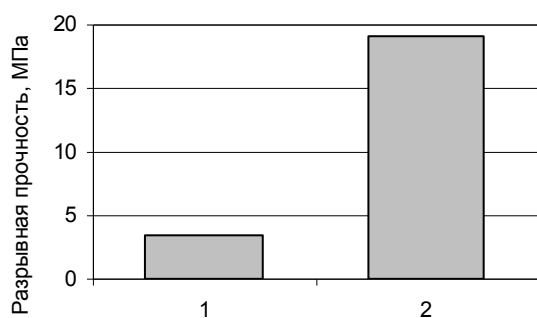


Рис. 4. Предел разрыва на прочность рубца роговицы после кератотомии с инстилляцией раствора баларпана (1) и липосомного баларпана (2)

Нанесение липосомного баларпана после фоторефрактивной кератектомии увеличивало скорость эпителизации роговицы вдвое по сравнению с раствором (рис. 5). Наблюдаемые эффекты, вероятно, являются следствием того, что баларпан в липосомах остается в ране более длительное время чем баларпан, введенный в виде раствора. Электронные микрофотографии поврежденной роговицы даже после 2 ч после инстилляцией липосом, меченных серебром, они наблюдаются между слоями коллагена (рис. 6). Это подтверждает нашу гипотезу о роли липосом как депо в экстрацеллюлярном матриксе роговицы.

Закапывание дисперсии пустых липосом приводило к умеренному эффекту по сравнению с раствором баларпана так

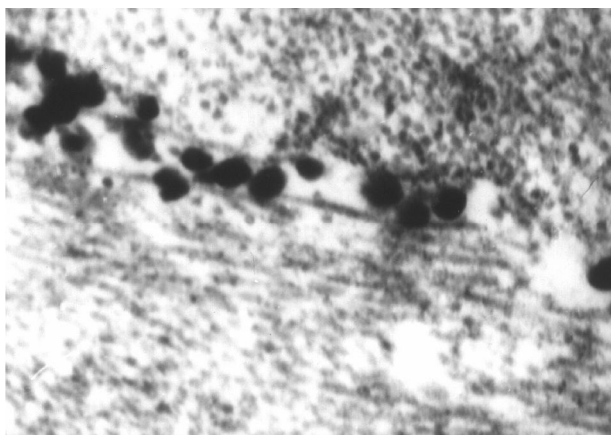


Рис. 6. Меченные серебром липосомы (200 нм) в строме роговицы через 2 ч после инстилляцией на поврежденную роговицу.

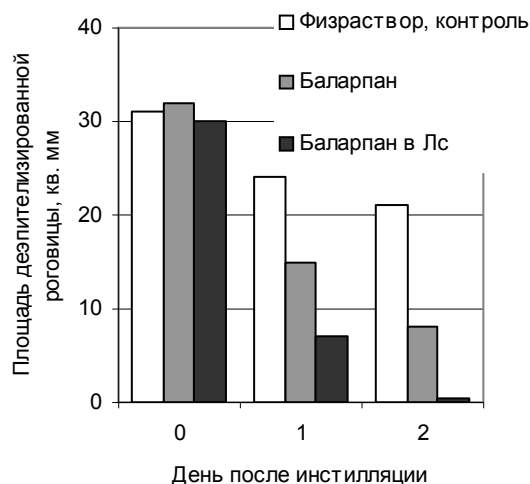


Рис. 5. Уменьшение площади деэпителизированной роговицы после фоторефрактивной кератектомии

же, как и в случае введения пустых липосом паркинсоническими мышам.

Солюбилизация плохо растворимых субстанций

На кафедре также исследуются способы солюбилизации плохо растворимых веществ с помощью нанотехнологий. Мы обнаружили общую закономерность для дисперсий смесей гидрофобных субстанций и фосфолипидов: при использовании значительной доли субстанции (начиная с определенной мольной доли) кроме липосом образуется дополнительный тип наночастиц.

Эта тенденция наблюдалась для гелиомицина (рис. 7), бетулиновой кислоты (рис. 8), производных хлорина e_6 , рифампицина

В типичном опыте мы готовили липосомные препараты упариванием раствора липидов и вещества в хлороформе с последующей гидратацией и фильтрацией через мембраны с порами 400 нм, и затем продавливали через мембраны с порами 200 нм 19 раз. После фильтрации мы наблюдали преципитат на фильтре при максимальных долях вещества. В преципитате определяли количество липидов и субстанции. Рис. 7 показывает, что до 15% мольных весов гелиомицин оказывается в липосомах. После этого доля гелиомицина в липосомах падает. Параллельно появляется осадок. Отношение гелиомицин/липиды в осадке

варьируется от 49/51 до 72/38.

Для бетулиновой кислоты были получены подобные результаты (Рис.8). В этом случае отношение субстанция/липиды изменялось от 27/72 до 45/55. Мы

предположили, что преципитат, образующийся при приготовлении липосомных дисперсий, может использоваться как система доставки лекарств. Поэтому были такие нанодисперсии приготовлены специально.

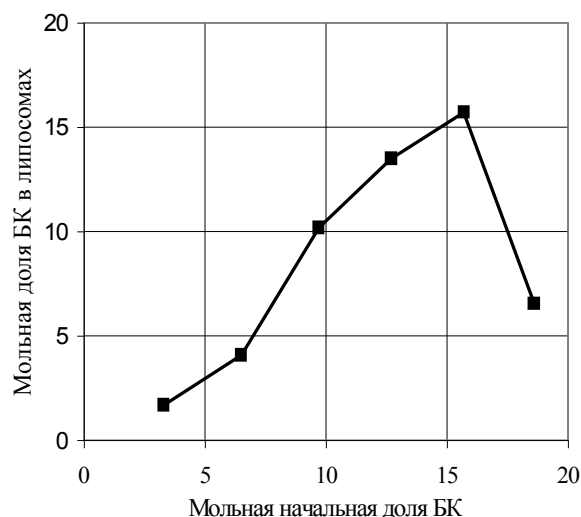
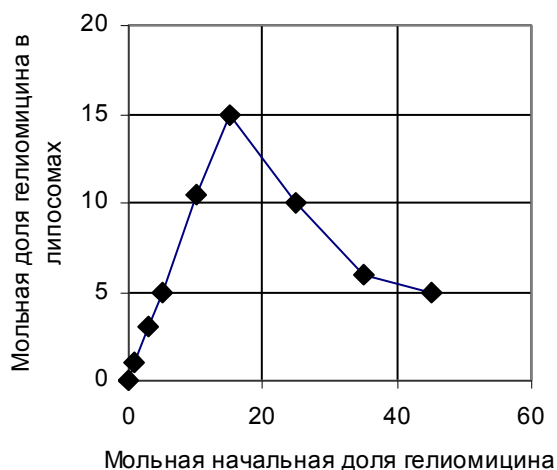


Рис. 7. Зависимость мольной доли гелиомицина в липосомах (яФХ/Хол, 7/3 моль/моль) от мольной доли гелиомицина в начальной смеси.

Как показано на рис. 9, наименьшие частицы образовывались при эквимолекулярном соотношении яФХ/БК. На электронных микрофотографиях видны стержни 18-24 нм в диаметре (рис. 10). Дисперсии других

Рис. 8. Зависимость мольной доли бетулиновой кислоты в липосомах (яФХ/Хол, 8/2 моль/моль) от мольной доли бетулиновой кислоты в начальной смеси.

лупановых производных (эпи-бетулиновая кислота, бетулоновая кислота, бетулин, лупан) давали наночастицы другой морфологии. Некоторые из них представляли собой устойчивые дисперсии

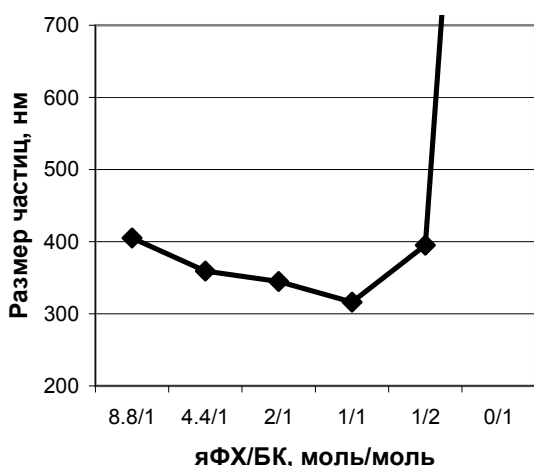


Рис. 9. Размер частиц в дисперсиях яФХ/БК при различном мольном соотношении.

С другой стороны мы нашли технологию приготовления стабильных нанодисперсий, состоящих из наносфер тритерпеноидов в аморфном состоянии с

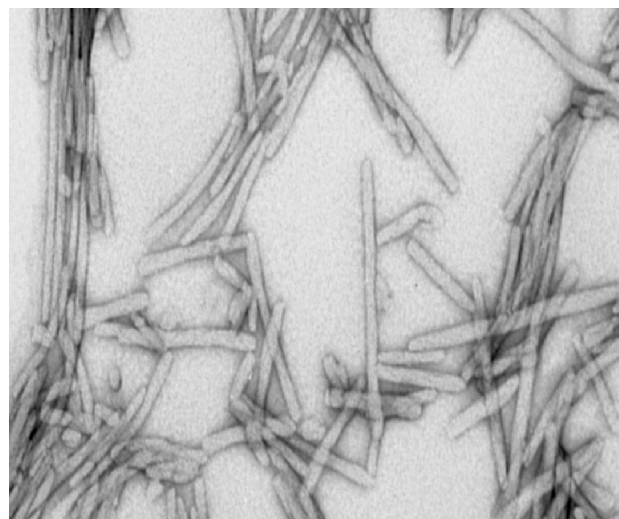


Рис. 10. Электронная микрофотография (негативное контрастирование уранил ацетатом) нанодисперсий яФХ/БК (1/1 моль/моль).

размером частиц 40-130 нм (рис. 11). Все полученные наночастицы имеют очень большую эффективность включения, особенно последние – аморфные наносферы.

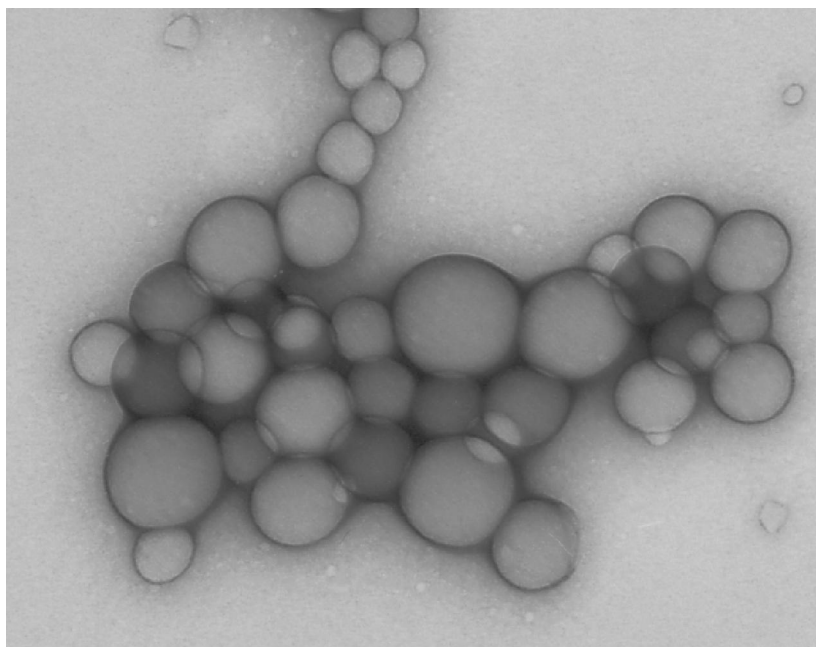


Рис. Электронная микрофотография (негативное контрастирование уранил ацетатом) нанодисперсий лупановых тритерпеноидов

Заключение

Количество нанопрепаратов на мировом фармацевтическом рынке растет довольно медленно. Одна из главных проблем конструирования наночастиц – соответствие субстанции носителю. Различные типы веществ нуждаются в различном типе носителей. Нужно учитывать соответствие полярности, молекулярной массы, формы молекул, распределение полярных и гидрофобных участков в молекулах субстанции и носителя. До сих пор подбор носителя, подходящего данной субстанции, в основном происходит эмпирически. Мощным инструментом для предсказания совместимости субстанции и носителя может стать компьютерная симуляция с

помощью методов молекулярной динамики надмолекулярных агрегатов [25,26].

Увеличение эффективности наночастиц как средств доставки лекарств связано с улучшением селективности доставки в мишень: ткань, орган, клетку, компартмент клетки. Это может быть достигнуто активным нацеливанием. Недавно, первый иммунотоксин Mylotarg [27], был принят в США для лечения одного из видов лимфом. Для активного нацеливания наночастиц остался один шаг.

Другим важным направлением для улучшения селективности является контролируемое высвобождение лекарства из наночастиц. Так, pH-зависимый выход молекул ДНК из эндосом резко улучшает эффективность трансфекции [28,29].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kayser O., Kiderlen A.F. (2003) Delivery strategies for antiparasitics. // *Expert Opin. Investig. Drugs* V. 12. P. 1-11
2. Allen T., Cullis P., (2004) Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science*. V. 303 P. 1818-1822
3. Tamilvanan S. (2004) Oil-in-water lipid emulsions: implications for parenteral and ocular delivering systems. *Progr. Lipid Res.* V. 43. P. 489-533.
4. Duncan R, Vicent M.J., Greco F., Nicholson R.I. (2005) Polymer-drug conjugates: towards a novel approach for the treatment of endocrine-related cancer. *Endocr. Relat. Cancer*. V. 12 Suppl 1: S189-199.
5. ABRAXANE [prescribing information]. Schaumburg, Ill: Abraxis Oncology, a Division of American Pharmaceutical Partners, Inc; January 2005.
6. Singer J.W., Shaffer S, Baker B, et al. (2005) Paclitaxel poliglumex (XTYOTAX; CT-2103): an intracellularly targeted taxane. *Anti-Cancer Drugs*. V. 16. P. 243-254.
7. Farrell R., Heaney D., Giovannoni G. (2005) Emerging therapies in multiple sclerosis. *Expert. Opin. Emerg. Drugs*. V. 10(4). P. 797-816.
8. Moghimi S.M., Szebeni J. (2003) Stealth liposomes and long circulating nanoparticles: critical issues in pharmacokinetics, opsonization and protein-binding properties. *Progr. Lipid Res.* V. 42. P. 463-478

9. Iurasov V.V., Podgornyi G.I., Kucherianu V.G., Kudrin V.S., Nikushkin E.V., Zhigaltsev I.V., Sandalov Iu.G., Kaplun A.P., Shvets V.I., Kryzhanovskii G.N. (1996) The effect of liposomal form of L-Dopa on the level of dopamine, its metabolites, and phospholipid metabolism in the striatum of mice with experimental parkinsonian syndrome [Article in Russian] *Biull. Eksp. Biol. Med.* V. 122(12). P. 614-617.
10. Zhigaltsev I.V., Kaplun A.P., Kucheryanu V.G., Kryzhanovsky G.N., Kolomeichuk S.N., Shvets V.I., Yurasov V.V. (2001) Liposomes containing dopamine entrapped in response to transmembrane ammonium sulfate gradient as carrier system for dopamine delivery into the brain of parkinson mice. *J. Liposome Res.* V.11. N 1. P. 55-71
11. Багров С.Н., Новиков С.В., Каплун А.П., Лозинская О.Л. Препарат для лечения заболеваний и повреждений рогавицы Патент РФ, №2172026. 2002
12. Ле Банг Шон, Каплун А.П., Шпилевский А.А., Андия-Правдивый Ю.Э., Алексеева С. Г., Григорьев В.Б., Швеи В.И. (1998) Синтез бегулиновой кислоты из бегулина и исследование ее солубилизации с помощью липосом. *Биоорган. химия* 1998 Т. 24. № 10. С. 787-793.
13. Сымон А.В., Веселова Н.Н., Каплун А.П., Власенкова Н.К., Федорова Г.А., Лютик А. И., Герасимова Г.К., Швеи В.И. Синтез циклопропановых производных бегулиновой и бегулоновой кислот и их противоопухолевая активность. (2005) *Биоорган. хим.* 2005 Т. 31. С.320-325
14. Koller W.C., Paulson G. (Eds.). *Handbook of Parkinson's Disease*. Marcel Dekker, New York. 1990.
15. Кучеряну В.Г., Юрасов В.В., Крьжановский Г.Н., Никушкин Е.В., Жигальцев И.В., Каплун А.П., Швеи В.И. (1997) Влияние L-DOPA и его липосомальной формы на развитие паркинсонического синдрома у мышей. *Бюллетень эксперим. биол. и медицины*. 1997.-Т. 123. N 1. С. 29-33.
16. Yagi K., Naoi M., Sasaci H., Abe H., Konishi H., Arichi S. (1982) Incorporation enzyme into the brain by means of liposomes of novel composition. *J. Appl. Biochem.* V. 4. P. 121-125.
17. Mori N., Sato T., Kumashiro H. (1992) Anticonvulsant effect of systemically administered GABA-containing liposomes in rats induced to seizure by amygdaloid electrical stimulation. *J. Lipid Res.* V. 2. P. 49-55.
18. Yurasov V.V., Kucheryanu V.G., Kaplun A.P., Zhigaltsev I.V., Nikushkin E.V., Shvets V.I., Kryzhanovsky G.N. (1997) Dopamine encapsulated in liposomes exerts antiparkinsonian effects in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydro-pyridine-treated mice, *Proc. of the 24th Int. Symp. on Controlled Release of Bioactive Materials*, Stockholm, Sweden, P. 477-478.
19. Борисова Н. В., Крюков В. И., Каплун А. П., Швеи В. И. (1996) Физико-химические свойства боратных производных DOPA, допамина и их липосомальных форм *Биоорган. химия* 1998 Т. 24. № 11. С. 856-863.
20. Nichols J.W., Deamer, D.W. (1976) Catecholamine uptake and concentration by liposomes pH gradients. *Biochim. Biophys. Acta.* V. 455. P. 269-271.
21. Cullis P.R., Hope M.J., Bally M.B., Madden T.D., Mayer L.D., Fenske D.B. (1997) Influence of pH gradients on the transbilayer transport of drugs, lipids, peptides and metal ions into large unilamellar vesicles. *Biochim. Biophys. Acta.* V. 1331. P. 187-211.
22. Yurasov V.V., Kucheryanu V.G., Podgorni G.N., Kudrin V.S., Kaplun A.P., Zhigaltsev I.V., Shvets, V.I. (1997) Biochemical Effects of Conventional Liposomes in Mice Brain, *Proc. of the 25th Int. Symp. Controlled Release of Bioactive Materials*, Las Vegas, USA, P. 394-395.
23. Cornford E. M., Cornford M. E. New systems for delivery of drugs to the brain in neurological disease. *Lancet Neurology* (2002) V. 1. P. 308-315
24. A New Function for the LDL Receptor: Transcytosis of LDL across the Blood-Brain Barrier. Dehouck B., Fenart L., Dehouck M.-P., Pierce A., Torpier G., Cecchelli R. *J. Cell Biol.* V. 138. (1997) P. 877-889
25. Anezo C., de Vries A. H., Holtje H.-D., Tielema D. P., Marrink S.-J. Methodological Issues in Lipid Bilayer Simulations. (2003) *J. Phys. Chem. B.* V. 107, P. 9424-943
26. Marrink S.-J., de Vries A. H., Mark A. E.. Coarse Grained Model for Semiquantitative Lipid Simulations. (2004) *J. Phys. Chem. B.* V. 108, P. 750-760
27. Larson R.A., Sievers E.L., Stadtmayer E.A., Lowenberg B., Estey E.H., Dombret H., Theobald M., Voliotis D., Bennett J.M., Richie M., Leopold L.H., Berger M.S., Sherman M.L., Loken M.R., van Dongen J.J., Bernstein I.D., Appelbaum F.R. (2005) Final report of the efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg) in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first recurrence. *Cancer.* V. 104(7). P. 1442-1452.
28. Cheung C. Y., Murthy N., Stayton P. S., Hoffman A. S. (2001) A pH-Sensitive Polymer That Enhances Cationic Lipid-Mediated Gene Transfer. *Bioconjugate Chem.* V. 12, P. 906-910.
29. Masson C., Garinot M., Mignet N., Wetzer B., Mailhe P., Scherman D., Bessodes M. (2004) pH-Sensitive PEG lipids containing orthoester linkers: new potential tools for nonviral gene delivery. *J. Contr. Rel.* V. 99. P. 423-434